Lane Medical Library
192

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Ludwigsuniversität zu Gießen
Direktor: Prof. Dr. R. Feulgen

Quantitative Bestimmung des Plasmals

Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät
der Hessischen Ludwigs-Universität
zu Gießen

vorgelegt von

Helmut Grünberg

aus Wuppertal

Gießen 1936

von Münchowsche Universitäts-Druckerei Otto Kindt GmbH. in Gießen

Gedruckt mit Genehmigung
der medizinischen Fakultät der Universität Gießen.
Referent: Prof. Dr. R. Feulgen.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154009_0172

Von R. Feulgen und K. Voit (1) war, weitvorbereitet im Protoplasma tierischer Zellen, eine lipoide Substanz (Plasmalogen) aufgefunden worden, die sich in ihrem Verhalten zu Lösungs- und Fällungsmitteln wie ein Phosphatid verhielt, und die schon durch eine äußerst milde Hydrolyse einen Aldehyd (Plasmal) abspaltete, der ebenfalls lipoiden Charakter hatte. Diese Substanz wurde in den Zellen sämtlicher Tierklassen bis herunter zu den Protisten nachgewiesen. Der leicht abspaltbare Aldehyd wurde von R. Feulgen, K. Imhäuser und M. Behrens (2) in Gestalt seines Thiosemicarbazons als Palmitinaldehyd identifiziert. Indessen war es wahrscheinlich, daß er auch mit anderen Aldehyden höherer Fettsäuren, insbesondere Stearinaldehyd, vergesellschaftet vorkommen kann. Über die Natur des Plasmalogens selbst ist zur Zeit nichts bekannt.

Zur chemischen wie auch zur biologischen Erforschung des Plasmalogens war eine Methode zur quantitaven Bestimmung der Plasmalkomponente unbedingt erforderlich. Über eine solche soll im folgenden berichtet werden.

Da Aldehyde ganz allgemein einen intensiven Farbstoff mit Fuchsin-schwefliger Säure (Schiffsches Reagens) liefern, so war von vornherein eine kolorimetrische Methode unter Benutzung dieses Reagenzes gegeben. Schon R. Feulgen und K. Imhäuser (3) hatten eine solche zur Bestimmung des Plasmals im Serum angegeben. Obgleich sowohl Plasmalogen wie Plasmal und auch der mit Fuchsin-schwefliger Säure daraus entstehende Farbstoff lipoide und in Wasser eigentlich unlöslich sind, so war doch die quantitative kolorimetrische Bestimmung im Serum besonders einfach, denn hier kommt das Plasmalogen in äußerst fein disperser Form vor. Man hat nur nötig, unter Berücksichtigung gewisser Vorsichtsmaßregeln, Serum mit Fuchsin-schwefliger Säure zu vermischen: Durch die Acidität der Fuchsinschwefligen Säure wird das Plasmal frei, reagiert mit dem Reagens unter Farbstoffsynthese, und das Gemisch kann ohne weiteres kolorimetriert werden, weil der Farfstoff fein dispers verteilt bleibt, und die Lösungen daher vollkommen klar erscheinen.

Aber diese günstigen Verhältnisse gelten nur für diesen Sonderfall; die Methode ist nicht anwendbar zur Bestimmung des Plasmals in Organen und auch nicht anwendbar auf bereits isolierte plasmalogenhaltige Lipoidgemische.

Aus Organen wird naturgemäß als vorbereitende Maßnahme das Plasmalogen mit Äther im Soxleth extrahiert. Nach dem Verdampfen des Äthers hinterbleibt es, vermengt mit einem Vielfachen von anderen Lipoiden und Fetten, so daß es sich hier darum handelt, das Plasmal in lipoiden, wasserunlöslichen Gemischen zu bestimmen. Versuche, das Lipoidgemisch mit einem Schutzkolloid fein dispers zu verteilen, und damit ähnliche Verhältnisse zu schaffen wie sie im Serum von Natur vorliegen, waren fehlgeschlagen, insbesondere wegen zu grober und inkonstanter Dispersität der lipoiden Substanz. Dagegen erwies sich folgender Weg als gangbar:

Die lipoide Substanz wird in wenig Eisessig gelöst und mit Fuchsin-schwefliger Säure gefällt. Sie scheidet sich dabei anfangs kolloidal, dann flockig ab und färbt sich im Laufe weniger Stunden je nach dem Gehalt an Plasmal mehr oder weniger violett, weil durch die Acidität der Fuchsin-schwefligen Säure das Plasmal frei wird und mit der Fuchsin-schwefligen Säure unter Farbstoffsynthese reagiert. Um den ausgefallenen Farbstoff in einen kolorimetrierfähigen Zustand zu bringen, wird er in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst, wobei sich als Lösungsmittel als weitaus am besten Amylalkohol erwiesen hat.

Es lag nahe, die Suspension des lipoiden Farbstoffs mit der Fuchsin-schwefligen Säure sofort mit einer bestimmten Menge Amylalkohol auszuschütteln, was in der Tat leicht möglich ist. Der Farbstoff geht dabei in dem Amylalkohol klar in Lösung, so daß diese Lösung sofort kolorimetriert werden kann. Indessen gibt auch reinster Amylakohol, selbst dann, wenn er vorher von noch vorhandenen Aldehyden durch Destillation über Silberoxyd befreit war, beim Schütteln mit Fuchsin-schwefliger Säure eine Rotfärbung. Es ist dies offenbar keine Aldehydreaktion, sondern beruht auf einer Zersetzung der Fuchsin-schwefligen Säure. Diese ist nämlich im Amylalkohol etwas löslich, verlangt aber zur unzersetzten Existenz eine gewisse saure Reaktion und einen Überschuß von SO_2, welche Bedingungen in amylalkoholischer Lösung nicht gegeben sind. Durch Vergrößerung der Wasserstoffjonenkonzentration in der Fuchsin-schwefligen Säure konnte diese sekundäre Zersetzung zwar weitgehend unterdrückt werden, indessen sinkt dadurch gleichzeitig die Empfind-

lichkeit des Reagenzes in unerträglichem Maße. Übrigens war die Leichtigkeit dieser sekundären Zersetzung bei Fuchsinpräparaten verschiedener Herkunft eine verschiedene.

Aus diesem Grunde wurde die gefärbte lipoide Substanz vor dem Lösen in Amylalkohol von der Fuchsin-schwefligen Säure abgetrennt, mit SO_2-haltigem Wasser ausgewaschen, in SO_2-haltigem Wasser suspendiert und dann mit Amylalkohol ausgeschüttelt; der blinde Versuch zeigte, daß bei dieser Arbeitsweise irgendwelche sekundären Färbungen nicht mehr auftraten, daß vielmehr der Amylalkohol wasserhell blieb. Zur Abtrennung der lipoiden Substanz von der Fuchsin-schwefligen Säure hat sich als bequemstes Verfahren das Absaugen durch ein kleines mit einer Talkumsuspension gedichtetes Filter bewährt, insbesondere wenn in die lipoide Substanz etwas Talkum gegeben wurde. Nach dem Absaugen und Auswaschen mit SO_2-haltigem Wasser wird der Filterrückstand samt Filter in den Kolben zurückgegeben, mit SO_2-haltigem Wasser übergossen und mit Amylakhohol ausgeschüttelt.

Da der Palmitinaldehyd als Standardsubstanz sehr umständlich darzustellen und auch nicht haltbar ist, weil er leicht polimerisiert, so kam nur die Absolutkolorimetrie mit monochromatischem Licht in Frage unter mehrmaliger Festlegung des spezifischen Extinktionskoeffizienten. Benutzt wurde das Stufenphotometer von Pulfrich.

Zur Eichung wurde als Standardsubstanz anfänglich das Palmitinaldehydthiosemicarbazon benutzt, das sich ebenfalls unter Fabstoffsynthese mit der Fuchsin-schwefligen Säure umsetzt, aus der Erwägung heraus, daß der freie Aldehyd leicht zersetzlich, das Thiosemicarbazon dagegen haltbar ist. Indessen ist die Reaktionsgeschwindigkeit des Thiosemicarbazons erheblich geringer, und außerdem wurden mit einer äquivalenten Menge des freien Aldehyds erheblich höhere Werte erzielt; offenbar ist die Umsetzung des Thiosemicarbazons doch keine quantitative, sondern führt zu einem Gleichgewicht. Aus diesem Grunde wurde zur Standardisierung der freie Aldehyd benutzt. Es ergab sich, daß er in Eisessiglösung sehr beständig ist.

Praktische Ausführung der Bestimmung

Erforderliche Lösungen:

1. Fuchsin-schweflige Säure.

In einem Erlenmeyer übergießt man 1,0 g Fuchsin[1]) mit etwa 700 ccm siedendem Wasser, filtriert in einen Meßkolben zu 1000 ccm hinein, wäscht das Filter mit heißem Wasser nach, gibt dann 100 ccm n HCl hinzu und kühlt unter der Wasserleitung auf Zimmertemperatur ab. Zu dieser sauren Fuchsinlösung fügt man dann genau 5,00 g Natriumbisulfit (wasserfrei pro analysi), füllt mit Wasser bis zur Marke auf und läßt zum Gebrauch bis zum anderen Tage stehen. Der Meßkolben ist zugleich am geeignetsten als Aufbewahrungsgefäß, weil wegen des engen Halses ein Entweichen von SO_2 beim Öffnen des Stopfens auf ein Minimum beschränkt ist. Letzteres ist unter allen Umständen zu vermeiden, weil damit eine Änderung der Wasserstoffjonenkonzentration verbunden ist. Das Reagens wird mit einer 10 ccm fassenden Pipette entnommen, deren Erweiterung so schlank sein muß, daß sie durch den Kolbenhals hindurchgeht.

2. SO_2-haltiges Wasser.

15,0 g Natriumbisulfit (wasserfrei pro analysi) werden in etwa 2,5 Liter Wasser gelöst, 300 ccm n HCl zugefügt mit Wasser auf 3 Liter aufgefüllt. Das SO_2-haltige Wasser hat demnach die gleiche Zusammensetzung wie die Fuchsin-schweflige Säure, nur daß hier das Fuchsin fehlt.

3. 6%ige Sublimatlösung in Tropfflasche.

Vorbehandlung der Organe.

Zur quantitativen Bestimmung des Plasmals in Organen genügt eine Menge von 1,0 g. Das Trocknen zwecks Vorbereitung zur Ätherextraktion geschieht weitaus am bequemsten durch Zusatz von entwässertem Na_2HPO_4 nach Verreiben mit gesiebtem Sand. Zur Herstellung des Sandes geeigneter Korngröße wird grober Sand zuerst durch ein Sieb von $^1/_2$ mm Maschenweite, dann das Durchgegangene durch ein Sieb von $^1/_4$ mm Maschenweite gesiebt, so daß nur Sand, der durch Maschenweite $^1/_2$ mm geht, aber durch Maschenweite $^1/_4$ mm zurückgehalten wird, zur Verwendung kommt.

---

[1]) Standardisierter Farbstoff Bayer-Meister-Lucius der Firma Dr. K. Hollborn & Söhne, Leipzig S. 3.

Etwa 1,0 g des Organs werden mit 10 g Sand in einer Reibschale erst zerquetscht, dann verrieben bis eine gleichmäßige Paste entstanden ist, dann 2,0 g sekundäres Natriumphosphat, das durch Erhitzen in einer Schale von Kristallwasser befreit war und in Vorrat gehalten wird, zugesetzt und wieder verrieben: In wenigen Augenblicken ist die Masse staubtrocken. Sie wird dann in einer Soxlethhülse von 22×80 mm mit Narkoseäther etwa 8 Stunden extrahiert. DerÄther wird auf dem Wasserbade verdampft, der lipoide Rückstand mit 1,0 ccm Eisessig warm gelöst, mit 10 ccm Fuchsin-schwefliger Säure vermischt, 3 Tropfen Sublimatlösung zugesetzt (zur Beschleunigung der Abspaltung des Aldehyds) und nach Verschluß mit einem Gummistopfen mindestens 4 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Versuche haben ergeben, daß diese Zeit zur Erreichung der maximalen Extinktion ausreicht. Man kann aber auch ohne Beeinträchtigung der Werte über Nacht stehen lassen. Zum Absaugen dient eine konische Porzellannutsche mit Filtern von 2,7 cm Durchmesser. Das Filter wird feucht eingelegt, eine Messerspitze (ca. 0,1 g) Talkum in einem Reagensglase mit SO_2-haltigem Wasser suspendiert und auf das Filter gesaugt. Ebenso gibt man eine Messerspitze Talkum in den Kolben, schüttelt um, saugt durch das Talkumfilter ab und wäscht Kolben und Filter 2 mal mit SO_2-haltigem Wasser nach unter Zuhilfenahme einer Spritzflasche. Die Menge des Talkums muß sich nach dem Fettgehalt des Organs richten. Bei höherem Gehalt muß mehr Talkum angewandt werden, um alles Fett zurückzuhalten.

Das Filter wird mit einer Pinzette in den Kolben zurückgegeben, die Nutsche mit kleinen Stückchen Filtrierpapier ausgewischt, die ebenfalls in den Kolben hineinkommen, und ca. 10 ccm SO_2-haltiges Wasser und, mit der Pipette genau abgemessene, 10 ccm Amylalkohol zugegeben. Nach sorgfältigem Verschluß wird 2 Minuten lang unter Berieseln mit Leitungswasser geschüttelt. Hierbei darf der Kolben nur ganz oben am Hals festgehalten werden, um eine Erwärmung zu vermeiden. Unterbleibt die Unterkühlung des Kolbeninhaltes, erwärmt er sich vielmehr etwa durch die Handwärme, so kann der Amylakohol während des Kolorimetrierens infolge Abkühlung durch Wasserabscheidung trüb werden.

Man gießt den Kolbeninhalt jetzt in ein Zentrifugenglas, verschließt mit einem Stopfen und zentrifugiert 5 Minuten. Zum Abheben des Amylalkohols benutzen wir eine 10 ccm fassende Pipette, deren Auslaufspitze kurz nach oben gebogen ist. Das

Mundstück der Pipette ist nach abwärts gebogen und trägt einen Gummischlauch zum Ansaugen. Mit dieser Einrichtung wird der Amylalkohol abgehoben und in einer Küvette des Stufenphotometers von geeigneter Schichtdicke kolorimetriert. Die Menge Amylalkohol genügt für eine Küvette von 20 mm Schichtdicke. Zum Kompensieren dient reiner Amylalkohol. Kolorimetriert wird mit dem Filter S 53 (530 mμ).

Durch Multiplikation des Extinktionskoeffizienten R mit 10 erhält man den Gehalt der ursprünglich eingesetzten Eisessiglösung in mg%. Die runde Zahl 10 als Faktor ist Zufall, wie sich im folgenden Kapitel ergibt.

Die Standardsubstanz und die Ermittelung des spezifischen Extinktionskoeffizienten.

Wie erwähnt, wurde als Standardsubstanz der Palmitinaldehyd in Eisessiglösung verwendet. Allerdings muß man damit rechnen, daß neben dem Palmitinaldehyd, dessen Vorkommen mit Sicherheit festgestellt ist, noch andere Aldehyde ähnlicher Größenordnung, so vor allem der Stearinaldehyd vorkommen. Der Begriff „Plasmal" ist also ein Sammelbegriff für mehrere ähnlich sich verhaltende Körper. Vom Stearinaldehyd wurde festgestellt, daß dessen mit Fuchsin-schwefliger Säure entstehende Farbstoffdichte bei äquimolekularen Verhältnissen sich wohl nicht wesentlich von der des Palmitinaldehyds unterscheidet, und zudem wurde mit einem Phosphatidgemisch aus Gehirn, welches das Gesamtplasmalogen des Gehirns enthält, festgestellt, daß der daraus mit Fuchsin-schwefliger Säure entstehende Farbstoff sich in seiner „typischen Farbstoffkurve" bestens mit den Verhältnissen beim Palmitinaldehyd deckt.

Die Bereitung des freien Aldehyds erfolgte nach dem Verfahren von M. Behrens (4) durch Spaltung des Thiosemicarbazons mit verdünnter Schwefelsäure unter gleichzeitiger Wasserdampfdestillation. Eine Abänderung der Methode war aber insofern nötig, als zur Vermeidung jeglicher Polimerisation tunlichste Abkürzung der Darstellung angestrebt werden mußte. Als Kühler benutzten wir daher keinen Kugelkühler, aus dem der sich im Inneren fest abscheidende Palmitinaldehyd durch ein Lösungsmittel herausgelöst werden mußte, sondern einen kurzen Kühler von ca. 30 cm Länge mit glattem Rohr, aus dem das Wasser so warm herausfließt, daß bei dem niederen Schmelzpunkt des Palmitinaldehyds (34°) dieser in geschmolzenem Zu-

stand auf dem Wasser schwimmend heraustritt. Das Destillat wird in einem Rohr von Reagensglasweite aufgefangen, das aber nach Art einer sogenannten Florentiner Flasche unten einen nach oben gebogenen Ablauf hatte, so daß der Flüssigkeitsspiegel immer in gleicher Höhe bleibt. In diesem Rohr sammelt sich der Aldehyd in Form eines Öltropfens auf dem Wasser an. Es wurde nur eine Stunde destilliert, das Rohr dann abgekühlt, wobei das Öltröpfchen kristallinisch erstarrte, dieses auf Filtrierpapier abgetupft, und im hohen Vakuum über Schwefelsäure eine halbe Stunde getrocknet. So dargestellt, ist der Aldehyd sofort rein und hat den vorgeschriebenen Schmelzpunkt von 34°. Der Aldehyd wurde sofort in Eisessig gelöst (50 mg/100 ccm). Aus dieser Stammlösung wurden mit Eisessig Verdünnungen (25 mg%, 12,5 mg%, 4 mg%, 2 mg%, 1 mg% und 0,5 mg%) hergestellt und je 1 ccm davon für die kolorimetrische Bestimmung eingesetzt.

Hierbei sollte geprüft werden, ob der gebildete Farbstoff dem Beer-Lambertschen Gesetze gehorcht, ob also die Kurve für den Extinktionskoeffizienten k linear verläuft, oder ob eine Eichkurve angelegt werden mußte. Es ergab sich, daß das erste in der Tat der Fall ist, und daß man durch Multiplikation des Extinktionskoeffizienten mit 10 den Gehalt der Eisessiglösung an Palmitinaldehyd in mg% erhält.

mg%	S	$E_{(s)}$	k
50	2,5	1,24	4,96
25	2,5	0,607	2,43
12,5	2,5	0,309	1,24
4	20	0,782	0,391
2	20	0,411	0,205
1	20	0,206	0,103
0,5	20	0,106	0,053

S = Schichtdicke in mm
$E_{(s)}$ = Extinktion bei der Schichtdicke S
k = Extinktionskoeffizient = Extinktion bei einer Schichtdicke von 10 mm ($k = E_{(10)}$).

Die Tabelle zeigt also die Proportionalität der Extinktionskoeffizienten bei verschiedener Konzentration bei Einsatz von Palmitinaldehyd. Nun kommt aber, wie von Feulgen (5) und Mitarbeitern gezeigt wurde, der Palmitinaldehyd in der Natur niemals frei vor, sondern stets gekuppelt in Gestalt von Plasmalogen. Daher mußte die Gültigkeit des Beer-Lambertschen Gesetzes auch beim Plasmalogen nachgewiesen werden. Das

Plasmalogen verhält sich aber, wie unten ausgeführt werden wird, wie ein Phosphatid und kommt auch vergesellschaftet mit Phosphatiden vor. Daher wurde die Gültigkeit des Beer-Lambertschen Gesetzes an einem Phosphatidgemisch aus Gehirn geprüft, indem ein solches Phosphatidgemisch in Eisessig gelöst und unter Herstellung der Konzentrationen 1, $^1/_3$, $^1/_{10}$, $^1/_{50}$ kolorimetriert wurde. Dabei ergaben sich folgende Werte:

Konzentration	S	$E_{(s)}$	k
1	2,5	0,752	3,01
$^1/_3$	2,5	0,253	1,01
$^1/_{10}$	20	0,595	0,298
$^1/_{50}$	20	0,118	0,59

Man sieht auch hier die Proportionalität der Werte für k bei der entsprechenden Verdünnung.

Im übrigen wurde der Faktor, mit dem man die Extinktionskoeffizienten multiplizieren muß, um die Konzentration des Palmitinaldehyds in mg% zu erhalten, mehrfach unabhängig bestimmt, indem dreimal unabhängig aus dem Palmitinaldehydthiosemicarbazon der frische Aldehyd dargestellt, zu 50 mg% bzw. zu 60,6 mg% in Eisessig gelöst und die Werte für k ermittelt wurden. Es ergaben sich folgende Werte:

mg%	S	$E_{(s)}$	k
50	2,5	1,24	4,96
50	0,98	0,489	4,99
60,6	0,98	0,593	6,05

Man sieht also, daß man durch Multiplikation des Extinktionskoeffizienten mit der runden Zahl 10 den Gehalt an Palmitinaldehyd in mg% erhält.

Auch der Stearinaldehyd wurde in der gleichen Weise aus seinem Thiosemicarbazon dargestellt. Der gewonnene Aldehyd zeigt aber einen etwas höheren Schmelzpunkt als verlangt wird (43° statt 38°), ein Zeichen dafür, daß er bereits in geringem Maße polimerisiert war. Mit einer Lösung von 50 mg% wurde für den Extinktionskoeffizienten k ein Wert 3,8 erhalten. Da das Molekulargewicht des Stearinaldehyds um 10% höher ist als das des Palmitinaldehyds, ergibt sich durch Umrechnung ein Sollwert von 4,2. Durch Multiplikation mit 10 erhält man dann 42 mg% statt der verlangten 50. Es ist aber anzunehmen, daß dieser Unterschied auf der teilweisen Polimerisation des Präparates beruht, und daß ein wesentlicher Unterschied zwischen Pal-

mitin- und Stearinaldehyd bei äquimolekularen Verhältnissen nicht besteht. Wegen Materialmangels mußte auf die Reindarstellung des Stearinaldehyds vorläufig verzichtet werden, doch geht die weitgehende Analogie des Stearinaldehyds mit dem Palmitinaldehyd auch aus der typischen Farbkurve (s. u.) hervor.

Über die typischen Farbkurven von Palmitinaldehyd, Stearinaldehyd und Phosphatidgemischen.

Das Plasmalogen läßt sich den getrockneten Organen mit Äther entziehen. Durch Fällen des eingeengten ätherischen Extraktes mit Aceton wird es vergesellschaftet mit Phosphatiden ausgefällt. Gegen Lösungs- und Fällungsmittel verhält sich das Plasmalogen also wie ein Phosphatid. Ein solches Phosphatidgemisch enthält das Gesamtplasmal des Organs. Es mußte nun untersucht werden, ob in Organen auch Aldehyde vorkommen, deren mit Fuchsin-schwefliger Säure erzielten Absorptionskurven aus dem Rahmen der mit Palmitinaldehyd und Stearinaldehyd gewonnenen fällt. Es wurde daher Phosphatid aus Gehirn dargestellt, zu 800 mg% in Eisessig gelöst, die „typische Farbkurve" des mit Fuchsin-schwefliger Säure erzielten Farbstoffes ermittelt und diese mit der typischen Farbkurve des Palmitinaldehyds sowie auch des Stearinaldehyds verglichen. Der Palmitinaldehyd wurde dabei in 50 mg%iger Lösung angewandt, ebenfalls der Stearinaldehyd. Typische Farbkurven erhält man bekanntlich, wenn man die Logarithmen der Extinktionskoeffizienten bei verschiedenen Wellenlängen in Abhängigkeit der Wellenlängen aufträgt. Bei dieser Darstellungsweise fallen die Konzentrationen heraus, und die Kurven verlaufen bei gleichen Absorptionsverhältnissen parallel. Diese Parallelität trifft in der Tat bei den erwähnten Aldehyden bzw. Aldehydquellen bestens zu.

Filter	Palmitinaldehyd		Stearinaldehyd		Phosphatid	
	k	log 100k	k	log 100k	k	log 100k
S 75	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
S 72	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
S 66,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
S 61	0,565	1,75	0,41	1,61	0,75	1,88
S 57	6,91	2,84	5,2	2,72	7,5	2,88
S 53	4,81	2,68	3,8	2,58	5,73	2,76
S 50	1,55	2,19	1,34	2,13	1,97	2,29
S 47	0,33	1,51	0,3	1,48	0,49	1,69
S 43	0,17	1,24	0,07	0,85	0,08	0,9

In den typischen Farbkurven sind auf der Abszisse die Wellenlängen der benutzten Filter angegeben, während als Ordinaten die Logarithmen von k.100 dienen. Der Faktor 100 wurde gewählt, um als Ordinaten nur positive Werte zu bekommen.

Wir benutzten diese Kurve zum Hinweis auf das von uns vorgeschlagene monochromatische Filter. Da man in der Regel dasjenige monochromatische Filter wählt, welches die höchsten Werte für die Extinktion liefert, so wäre eigentlich das Filter S 57 das Gegebene, indessen ließ dabei die Farbübereinstimmung in den beiden Gesichtsfeldhälften zu wünschen übrig, während diese bei Filter S 53 in ausreichendem Maß gewährleistet war. Aus diesem Grunde wurde das Filter S 53 für alle Versuche benutzt, und insbesondere gilt der Faktor 10 mit dem die Extinktionskoeffizienten multipliziert werden müssen, um die Konzentration in mg% zu erhalten, einzig und allein für das Filter S 53 (Wellenlänge 530 mμ) des Pulfrichschen Photometers. Geprüft wurde aber auch noch das Filter S 55, das zwischen S 57 und S 53 liegt, aber bei normaler Ausstattung des Stufenphotometers nicht beigegeben wird. Dieses Filter hatte aber keinerlei Vorzüge vor dem normalen Filter S 53.

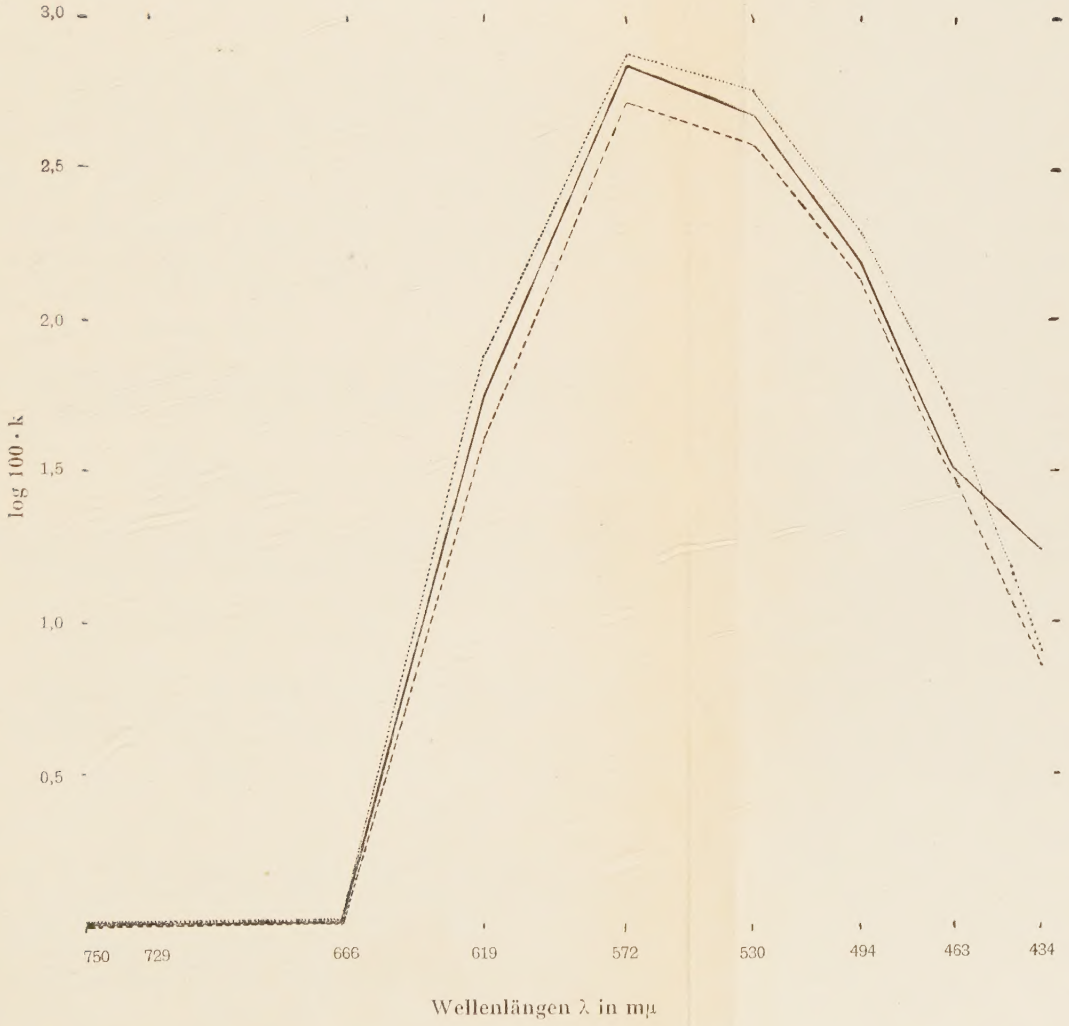
Über die Wirkung des Sublimats bei der Farbstoffsynthese.

Wie aus der oben mitgeteilten Methodik bei der Bestimmung des Plasmalogens hervorgeht, versetzen wir den Ansatz zur Farbstoffbildung mit drei Tropfen Sublimatlösung. Sublimat kann, wie aus früheren Versuchen hervorgeht, die Abspaltung des Palmitinaldehyds aus Plasmalogen außerordentlich stark beschleunigen. Wird das Sublimat weggelassen, so erfolgt zwar ebenfalls eine Freisetzung von Plasmal durch die Acidität der Fuchsinschwefligen Säure und der Essigsäure, doch geht dieser Prozeß in Gegenwart von Sublimat im Bruchteil einer Sekunde vor sich. Aus diesem Grunde empfehlen wir zur Beschleunigung der Abspaltung des Plasmals und damit auch der Farbstoffsynthese die Anwendung des Quecksilberchlorids. Doch mußte zuvor geprüft werden, ob Quecksilberchlorid irgendeinen Einfluß auf die Werte für k ausübt. Das ist aber nicht der Fall, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht:

Aus einer Lösung von Phosphatiden in Eisessig wurden die Verdünnungen 1, $^1/_3$, $^1/_{10}$, $^1/_{50}$ hergestellt und von jeder Verdünnung ein kolorimetrischer Ansatz gemacht, und zwar das eine Mal mit

Typische Farbkurven von

..... Phosphatid
——— Palmitinaldehyd
- - - - - - Stearinaldehyd



das andere Mal ohne Sublimat. Es wurden folgende Werte gefunden:

Konzentration	k (b. Ggw. v. $HgCl_2$)	k (ohne $HgCl_2$)
1	3,04	2,98
$^1/_3$	1,01	1,01
$^1/_{10}$	0,303	0,292
$^1/_{50}$	0,060	0,058

Berechnung.

Wie erwähnt, erhält man durch Multiplikation des Extinktionskoeffizienten mit dem Faktor 10 den Gehalt der Eisessiglösung in mg%. Bei Anwesenheit von reinem Stearinaldehyd würde der Faktor 11 und bei einem Gemisch aus molekularen oder aus annähernd molekularen Mengen von Palmitinaldehyd und Stearinaldehyd 10,5 lauten. Bezeichnet man den Gehalt der Eisessiglösung mit n (mg in 100 ccm), den Extinktionskoeffizienten (Extinktion bei 10 mm Schichtdicke) mit k, so ist

$$n = 10 \cdot k$$

Von der Eisessiglösung wird nun bei jeder Bestimmung 1,0 ccm hergestellt und eingesetzt. Die Menge Plasmal im Reaktionsgefäß beträgt also:

$$\frac{10 \cdot k}{100} \text{ mg}$$

Ist S die Menge Organsubstanz in Grammen, aus der das Plasmal stammt, so ist der Gehalt des Organs an Plasmal in mg%

$$\frac{10 \cdot k \cdot 100}{100 \cdot S} = \frac{10 \cdot k}{S} \text{ mg\%}.$$

Drückt man S in mg aus, so erhält man den Gehalt des Organs oder der lipoiden Substanz in g%.

Literatur

1. R. Feulgen u. K. Voit, Pflügers Arch. *203,* S. 415 (24).
2. R. Feulgen, K. Imhäuser u. M. Behrens, H.-S. *180,* S. 161 (30).
3. R. Feulgen u. K. Imhäuser, Bioch. Z. *181,* S. 30 (27).
4. M. Behrens, H.-S. *191,* S. 183 (30).
5. R. Feulgen u. Mitarbeiter, Bioch. Z. 193, S. *251* (28). — Ebenda *193,* S. 416 (28).

Lebenslauf

Ich, Helmut Grünberg, wurde geboren als Sohn des damaligen Stadtsekretärs Ernst Grünberg und seiner Frau Frieda, geb. Regensburger, zu Wuppertal-Ronsdorf am 9. August 1909. Nach je dreijährigem Besuch der dortigen Grund- und der Rektoratsschule kam ich in das Röntgen-Realgymnasium zu Remscheid-Lennep, wo ich Ostern 1927 die Reifeprüfung gut bestand.

Ich studierte zunächst in Gießen während acht Semestern Chemie und schloß das Chemiestudium im W.-S. 1930/31 mit dem Bestehen des Chemischen Verbandsexamens ab. Darauf begann ich im S.-S. 1931 das Studium der Medizin in Gießen unter Anrechnung von zwei Semestern meines Chemiestudiums. Auch alle weiteren Studiensemester verbrachte ich in Gießen, wo ich im November 1935 die ärztliche Staatsprüfung ablegte. Seit dem 1. Dezember 1935 bin ich an der Medizinischen Univ.-Poliklinik als Medizinalpraktikant tätig gewesen und zwar bis zum 30. November 1936 mit Ausnahme der Monate März bis August, in denen ich im Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Gießen arbeitete. Im März desselben Jahres heiratete ich Frl. Gertrud Kemper aus Wuppertal-Ronsdorf. Seit meiner Approbation am 1. Dezember bin ich als Volontärassistent weiterhin an der Medizinischen Univ.-Poliklinik Gießen geblieben.

Gießen, im Dezember 1936.